Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Professor Dr. Schrader

Der Nachweis der Blutgruppenzugehörigkeit der weißen Blutkörperchen am Leichenblut

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnheilkunde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

Vorgelegt von

HARRY KLOSS
Zahnarzt aus Halle (Saale)

Halle (Saale) 1938

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Str. 14

Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Professor Dr. Schrader

Der Nachweis der Blutgruppenzugehörigkeit der weißen Blutkörperchen am Leichenblut

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnheilkunde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

Vorgelegt von

HARRY KLOSS
Zahnarzt aus Halle (Saale)

Halle (Saale) 1938

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Str. 14

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

I Berichterstatter: Dozent Dr. med. Ponsold
II. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Schrader
Tag der mündlichen Prüfung: 18. Februar 1938
Gedruckt mit Genehmigung der Med. Fakultät

In Dankbarkeit

meinen lieben Eltern!

INHALT.

Seite

Einleitung 5

1. Gruppenspezifische Untersuchungen außerhalb der roten Blutkörperchen 5
2. Gruppenspezifische Untersuchungen an weißen Blutkörperchen 5

I. Unsere Technik 6

A. Die Blutentnahme aus der Leiche . . 6

1. Verwendung von Blut aus der rechten Herzhälfte . 6
2. Die Freilegung des Herzens 6
3. Das Abklemmen der großen Gefäße 7
4. Das Öffnen des Herzens 7
5. Das Blutabsaugen 7

B. Die Isolierung der weißen von den roten Blutkörperchen 8

1. Das Waschen der Blutkörperchen 8
2. Das Aufziehen der weißen Blutkörperchen und deren Weiterverarbeitung in Kapillarröhrchen . . . 9

II. Die Durchführung der Versuche unter Verwendung der Kapillarmethode 11

A. Untersuchung auf Agglutinationsfähigkeit der weißen Blutkörperchen . . . 11

B. Das Absorptionsverfahren 12

III. Beurteilung der Ergebnisse 14

IV. Zusammenfassung 15

V. Schrifttum 16

EINLEITUNG.

1. Gruppenspezifische Untersuchungen außerhalb der roten Blutkörperchen.

Die Annahme, daß die Blutgruppeneigenschaften nur für die roten Blutkörperchen bzw. für das Serum charakteristisch sind, herrschte bis zum Jahre 1926. Zu dieser Zeit erschienen die ersten Mitteilungen, daß die für die Erythrozyten charakteristische Gruppierung auch an anderen Körperzellen festzustellen sei.

Von verschiedenen Forschern konnte nachgewiesen werden, daß menschliche Spermatozoen, ebenso wie die Flüssigkeit, in der diese suspendiert sind, spezifisch agglutinogene Substanzen enthalten, d. h. daß Sperma einer Person der Blutgruppe A elektiv Anti-A-Serum bindet, in gleicher Weise wird Anti-B-Serum durch Spermatozoen von B-Individuen gebunden.

Es müssen also die Samenzellen wie die Suspensionsflüssigkeit mit „Rezeptoren" derselben Art ausgestattet sein, wie sie sich in den Erythrozyten des betreffenden Individuums finden.

Auf diese Entdeckung hin wurden nun die Organe und Flüssigkeiten, überhaupt alle Bestandteile des menschlichen Körpers auf ihre Gruppenspezifität hin untersucht.

Was die Zellen in den verschiedenen parenchymatösen Organen betrifft, so wurde durch viele Arbeiten gezeigt, daß auch Organzellen, ebenso wie Blutzellen gruppengeprägt sind.

Je nach dem Vorhandensein von Gruppensubstanzen in den Organen spricht Hirszfeld von „absoluten" und „fakultativen" Gruppenträgern. Zu den „absoluten" werden rote Blutkörperchen und Serum, Magen, Darm, Niere, Nebenniere, Lunge, Milz und Bauchspeicheldrüse gezählt. Als „fakultative" sind Leber, Gallenblase, Schilddrüse, Herz, Aorta und Muskeln angeführt. Sehr spärlich sollen Gruppensubstanzen im Harn, Gehirn und Liquor cerebrospinalis vorkommen. Vollkommen frei sollen die Augenlinse, der Glaskörper und die Zähne sein.

2. Gruppenspezifische Untersuchungen an weißen Blutkörperchen.

In der vorliegenden Arbeit wurden nun die weißen Blutkörperchen auf ihre Gruppenspezifität hin untersucht. Es liegen hierüber bereits Versuche von Wichels und Lampe aus dem Jahre 1928 und von O. Thomsen aus dem Jahre 1930 vor. Wichels und Lampe, die Leukozyten von zwei Fällen von myeloischer Leukämie untersucht haben, geben an, daß die Leukozyten genau wie die Erythrozyten in menschlichen Seren regelmäßig agglutinierbar sind. Es wird jedoch darauf hingewiesen, daß die Leukozytenaufschwemmungen frisch sein müssen. Die Leukozyten sollen also demnach den roten

Blutkörperchen in der Gruppierung gleich sein. Thomsen dagegen, der das gruppenspezifische Verhalten der weißen Blutkörperchen in 6 Fällen von myeloischer und in 8 Fällen von lymphatischer Leukämie untersucht hat, gibt an, daß die weißen Blutkörperchen in menschlichen Seren nur ganz ausnahmsweise agglutinierbar gefunden wurden. Von den 14 Fällen, die Thomsen untersucht hat, trat nur in einem Falle Agglutination auf. In den übrigen 13 Fällen blieb die Agglutination aus, obgleich Thomsen ebenfalls frisch entnommenes Blut und ein besonders starkes Serum vom Titer 252 bis 512 benutzt hatte. Hingegen trat regelmäßig im Absorptionsversuch, in Übereinstimmung mit der Gruppe der zugehörigen Erythrozyten, eine Bindung zwischen den weißen Blutkörperchen und dem entsprechenden Serum ein.

Es folgt also hieraus, daß über die gruppenspezifischen Eigenschaften der weißen Blutkörperchen noch kein einheitliches Bild geschaffen wurde, und die bestehenden Widersprüche noch durch genauere Untersuchungen geklärt werden müssen.

I. UNSERE TECHNIK.

A. Die Blutentnahme aus der Leiche.

1. Verwendung von Blut aus der rechten Herzhälfte.

Das für die Versuche verwendete Blut wurde aus der rechten Herzhälfte entnommen.

Im Gegensatz zu dem Blut anderer Gefäßabschnitte bildet das Herzblut eine Ausnahme insofern, als bei der Hypostase die Blutkörperchen im Bereiche des Herzens verbleiben, also nicht aus einem Gefäßabschnitt in einen anderen übergehen. Dies trifft besonders für die rechte Herzhälfte zu. Das Blut der linken Herzhälfte erfährt eine Eindickung, da durch die Totenstarrrekontraktion der Muskulatur der linken Kammer das Plasma in die Aorta ausgetrieben wird. Bei der rechten Kammer lassen die Lungen die postmortale Plasmaverschiebung von der rechten Kammer in die Art. pulmonalis nicht zu, auch ist die Muskulatur der rechten Kammer nicht stark genug, diesen Widerstand zu überwinden.

Da also die Zusammensetzung des Blutes der rechten Herzhälfte annähernd so bestehen bleibt wie zu Lebzeiten, wurde für die Untersuchungen das Blut aus dem rechten Herzen entnommen.

2. Die Freilegung des Herzens.

Die Freilegung des Herzens geschieht nach besonderen Gesichtspunkten.

Zunächst wird nach Legung eines Hautschnittes in der Mittellinie die Brustmuskulatur vom Brustkorb abpräpariert. Mit einer Knochenschere werden dann die Rippen von der zweiten bis zur siebenten Rippe durchtrennt. Die Durchtrennung erfolgt in der vorderen

Axillarlinie, nicht an der Knorpel-Knochengrenze, da sonst der Zugang zum Herzen für die Blutentnahme zu eng ist. Nun wird das Brustbein quer durchtrennt, und zwar in der Höhe des ersten Zwischenrippenraumes, und der vordere Teil des Brustkorbes von oben nach unten abpräpariert. Durch das Präparieren in der genannten Richtung wird eine Lageveränderung des Herzens und damit Blutverschiebungen zwischen dem Herzen und den großen Gefäßen verhütet. Wird in entgegengesetzter Richtung, also von unten nach oben, prapäriert, so ist dabei eine Zerrung am Zwerchfell unvermeidlich, was eine Lageveränderung des Herzens und damit eine Blutverschiebung bewirken könnte. Vom Herzbeutel wird, auch um Lageveränderungen des Herzens zu vermeiden, der vordere Teil von der Umschlagstelle am Zwerchfell bis zur Umschlagstelle an der Aorta von unten nach oben herausgeschnitten.

3. Das Abklemmen der großen Gefäße.

Um eine Vermengung mit dem Blute der herznahen Abschnitte des Gefäßsystems bei der Blutentnahme zu vermeiden, ist eine Unterbindung der großen Gefäße vor dem Öffnen des Herzens erforderlich. Mittels chirurgischer Gefäßklemmen werden zunächst die untere und die obere Hohlvene an ihren Einmündungsstellen in den Vorhof abgeklemmt. Die Aorta und die Art. pulmonalis werden beide gleichzeitig mit einer Klemme unterbunden.

4. Das Öffnen des Herzens.

Das unter Druck stehende Blut wird am sichersten aufgefangen, wenn das Herz bei der auf dem Rücken liegenden Leiche an der am meisten ventral gelegenen Stelle geöffnet wird. Um ein zu starkes Hervorquellen des Blutes zu vermeiden, legt man zunächst einen kleinen, etwa 1 cm langen Schnitt, durch den der Schlauch einer noch zu beschreibenden Absaugevorrichtung in das Innere des Herzens eingeführt wird. Erst wenn ein Teil des Blutes aufgefangen ist, das Blut also nicht mehr unter Druck steht, wird die Kammer weiter aufgeschnitten.

5. Das Blutabsaugen.

Zum Absaugen des Blutes dient eine Wasserstrahlpumpe, an die ein dickwandiger Schlauch (lichte Weite etwa 5 mm Wandstärke auch etwa 5 mm) angeschlossen ist, der bis zum Sektionstisch reicht. An den dickwandigen Schlauch schließt sich ein dünnerer Schlauch (Katheter) an, der durch einen Korken oder Gummistopfen in ein Glasgefäß führt, das zum Auffangen des Blutes dienen soll. Zum Absaugen des Blutes dient das freie Ende eines zweiten dünnen Schlauches (Seidenkatheter), der ebenfalls durch den Korken in das Glasgefäß führt.

Das Einsaugen des Blutes in das Glasgefäß geschieht durch das Absaugen der Luft aus demselben.

Beim Absaugen ist darauf zu achten, daß die Schlauchmündung unter Führung des Auges an die Oberfläche des Blutes gehalten wird.

Ein zu tiefes Eintauchen der Schlauchmündung würde ein Festsaugen an der Herzwandung zur Folge haben. Der Vorgang des Absaugens ist an dem Geräusch zu hören, das durch das Mitgerissenwerden der Luft verursacht wird.

Die Blutentnahme ist auch ohne die oben beschriebene Absaugevorrichtung möglich. Hierbei wird nach vorheriger Unterbindung der großen Gefäße das Herz im Zusammenhang mit den Lungen entnommen. Auf diese Weise kann das Blut aufgefangen werden.

B. Die Isolierung der weißen von den roten Blutkörperchen.

1. Das Waschen der Blutkörperchen.

Zur Durchführung der Versuche werden nun 4 bis 6 Zentrifugengläser mit dem entnommenen Blute, das vorher kräftig zu schütteln ist, gefüllt und zentrifugiert. Hierzu werden die gebräuchlichen elektrischen Zentrifugen benutzt. Es wird mit hoher Umdrehungszahl (etwa 3500) zentrifugiert. Nach 15 bis 20 Minuten ist Konstanz des Volumens von Plasma und Blutkörperchen eingetreten und damit die Beendigung der Schichtung erreicht und zwar in der Form, daß sich die weißen Blutkörperchen in einer Schicht über den roten Blutkörperchen ansammeln.

Der nun folgende Arbeitsvorgang, wobei die weißen Blutkörperchen in reiner Form, d. h. ohne Beimischung von roten Blutkörperchen und Serum, isoliert werden sollen, richtet sich nach der vorliegenden Blutbeschaffenheit.

Da es sich um Leichenblut handelt, hat sich dieses in der Mehrzahl der Fälle, besonders bei älteren Leichen, in beginnender Hämolyse befunden. Die Plasmasäule und die weißen Blutkörperchen des zentrifugierten Blutes zeigten dann, je nach der Stärke der Hämolyse, eine mehr oder weniger rötliche Färbung.

Bei stärkerer Hämolyse ist das Blut für die Untersuchungen unbrauchbar.

Dagegen gelingt es bei leichterer Hämolyse in den meisten Fällen, durch mehrmaliges Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung die weißen Blutkörperchen für die Versuche brauchbar zu machen. Es wird hierbei folgendermaßen vorgegangen:

Die Zentrifugengläser mit dem zentrifugierten Blut werden auf einem Holzgestell senkrecht aufgestellt. Mit einer Saugpipette wird dann das leicht hämolytische Serum bis zu der Schicht der weißen Blutkörperchen abpipettiert. Hierbei ist es nicht unbedingt erforderlich, daß das Serum genau bis zu der weißen Schicht abgesaugt wird; es können nämlich hierbei sehr leicht weiße Blutkörperchen mitaufgesogen werden, die somit für die späteren Untersuchungen verloren gehen. Ist also das Serum soweit als möglich ohne Verlust von weißen Blutkörperchen abpipettiert worden, wird das Sediment der roten und weißen Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt, umgeschüttelt und zentrifugiert. Hierzu genügen 5 bis 10 Minuten. Die abzentrifugierte Kochsalzlösung wird nun wieder

abpipettiert und durch neue ersetzt. Das Versetzen des Sedimentes mit frischer Kochsalzlösung (das Waschen) wird solange fortgesetzt, bis die Kochsalzlösung nach dem Zentrifugieren wasserklar erscheint. Im allgemeinen genügen hierzu 3 bis 4 Waschungen.

Bei nicht anhämolysiertem Blut erübrigt sich natürlich das Waschen.

Das Waschen geschieht einerseits zur Befreiung von Hämoglobinbeimengungen, andererseits zur Befreiung vom Serum.

2. Das Aufziehen der weißen Blutkörperchen und deren Weiterverarbeitung in Kapillarröhrchen.

Im folgenden galt es nun, die weißen Blutkörperchen, die im Zentrifugenglas nur eine dünne Schicht von etwa 1 bis 3 mm bilden, in Kapillarröhrchen abzufüllen. Letztere sind dünne Glasröhrchen von 1 bis $1\,^1/_2$ mm Durchmesser. Die Länge beträgt, der Handlichkeit wegen, 10 cm. Die Wandstärke eines Kapillarröhrchens entspricht ungefähr der Dicke eines Deckglases.

Wie schon erwähnt, ist die Breite der Leukozytenschicht im Zentrifugenglas nicht immer die gleiche. In manchen Fällen war diese so dünn, daß sie wie ein kaum sichtbarer Hauch über dem Erythrozytensediment lag. Solche Fälle sind unbrauchbar, da einmal das Material für die Untersuchungen nicht ausreicht, andererseits gelingt es nicht, eine derartig dünne Schicht mit der Pipette aufzunehmen.

Im allgemeinen jedenfalls mißt die Leukozytenschicht im Zentrifugenglas 1 bis 2, in selteneren Fällen 3 Millimeter. Diese kleinen Schwankungen der Menge der weißen Blutkörperchen sind auch abhängig von dem Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme und der Art des Nahrungsmittels, das eingenommen wurde.

Beim Einbringen der weißen Blutkörperchen in die Kapillarröhrchen stößt man auf einige Schwierigkeiten.

Es muß einmal dabei mit der klebrigen Beschaffenheit der Leukozyten gerechnet werden. In einer Arbeit von E. Junghans aus der hiesigen Universitäts-Frauenklinik wird über die klebrigen Eigenschaften der Leukozyten eingehend berichtet. — Es gelingt also nur mit großer Mühe, die weißen Blutkörperchen in ein enges Kapillarröhrchen aufzuziehen, da diese fest an der Innenwand des Röhrchens haften, und die Leukozytensäule sich deshalb nur äußerst träge vorwärtsschiebt.

Auf der anderen Seite ist es unvermeidlich, daß bei noch so sorgfältigem Abpipettieren der Leukozyten rote Blutkörperchen mitaufgesogen werden.

Man kann diesen Schwierigkeiten aus dem Wege gehen, indem man einmal Kapillarröhrchen mit weitem Lumen ($1\,^1/_2$ bis 2 mm) benutzt.

Um nun ein besseres Gleiten der weißen Blutkörperchen zu erzielen, zieht man vor dem Einbringen der Leukozyten etwa 2 bis 3 cm physiologische Kochsalzlösung in die Kapillarröhrchen auf. Das

Aufziehen der weißen Blutkörperchen macht dann keine Schwierigkeiten mehr, da die Wände der Kapillarröhrchen durch die Kochsalzlösung benetzt sind und darum ein Haften infolge der Klebrigkeit nicht mehr eintritt.

Hat man genügend (5 bis 6 cm) weiße Blutkörperchen in die Kapillarröhrchen aufgezogen, so werden diese an dem anderen freien Ende über einer Gasflamme zugeschmolzen und zentrifugiert. Hierzu sind etwa 15 bis 20 Minuten erforderlich, da sich die in dem Leukozytenbrei befindlichen roten Blutkörperchen schwer absetzen.

In den meisten Fällen ist mit einem einmaligen Zentrifugieren der Kapillaren das Ziel, die weißen Blutkörperchen in reiner Form, d. h. ohne Beimischung von roten Blutkörperchen, zu erhalten, noch nicht erreicht.

Um dahin zu gelangen, ist ein mehrmaliges Zentrifugieren erforderlich.

Im allgemeinen zeigt der Inhalt der zentrifugierten Kapillarröhrchen von oben nach unten zu in der Färbung einen allmählichen Übergang von weiß über rosa nach dunkelrot. Es besteht also keine scharfe Trennung. Auch was im Kapillarröhrchen weiß erscheint, ist noch nicht restlos frei von roten Blutkörperchen, wie mikroskopische Untersuchungen gezeigt haben.

Mit einer kleiner Ampullenfeile wird darum der obere Teil der Leukozytensäule herausgefeilt, d. h. man durchtrennt das Röhrchen an der Stelle, wo eine zart rosa Färbung beginnt und an der Trennungsstelle zwischen Kochsalzlösung und weißen Blutkörperchen. Um diese herausgetrennte Säule der weißen Blutkörperchen von den noch beigemischten roten Blutkörperchen zu befreien, ist eine erneute Durchspülung (Waschen) mit physiologischer Kochsalzlösung notwendig. —

Es wird jetzt wieder wie zu Anfang vorgegangen. Man nimmt neue Kapillarröhrchen, in die wieder vor dem Einbringen der Leukozyten 2 bis 3 cm physiologische Kochsalzlösung aufgezogen werden. Das andere freie Ende der Röhrchen wird über einer Gasflamme zugeschmolzen. Nach dem Zentrifugieren wird das Sediment der roten Blutkörperchen und die Kochsalzsäule abgefeilt und der oben beschriebene Vorgang noch einmal durchgeführt. Nach dem Zentrifugieren ist nur noch ganz wenig Sediment von roten Blutkörperchen vorhanden. Ein erneutes Versetzen mit frischer Kochsalzlösung ist nun nicht mehr erforderlich. Es genügt, wenn nach dem Abfeilen des Sedimentes die Röhrchen am anderen Ende zugeschmolzen und wieder zentrifugiert werden. In den meisten Fällen sind danach die weißen Blutkörperchen frei von Erythrozyten, was auch durch mikroskopische Untersuchung festgestellt worden ist.

Was nun die Menge der isolierten weißen Blutkörperchen betrifft, so ist diese nur gering. Durch das häufige Waschen geht viel Material verloren, so daß durchschnittlich nur 1 bis $1\frac{1}{2}$ Kapillarröhrchen mit weißen Blutkörperchen für die Untersuchungen zur Verfügung stehen. Bei Verstorbenen mit Blutverlusten erhält man oft nur $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Kapillarröhrchen mit weißen Blutkörperchen.

Das Untersuchungsmaterial wurde im elektrischen Kühlschrank bei einer Temperatur von +3 Grad Celsius aufbewahrt.

II. DIE DURCHFÜHRUNG DER VERSUCHE UNTER VERWENDUNG DER KAPILLARMETHODE.

A. Untersuchung auf Agglutinationsfähigkeit der weißen Blutkörperchen.

Bevor auf die Versuche näher eingegangen wird, muß gesagt werden, daß zu allen Versuchen die Kapillarmethode benutzt wurde. Diese, von Ponsold eingeführte Methode wird im hiesigen Institut für forensische Blutgruppenbestimmungen und Absorptionen angewendet.

Die Kapillarmethode hat gegenüber anderen Methoden den Vorteil der Sparsamkeit im Materialverbrauch, was hier besonders von Bedeutung ist, da an weißen Blutkörperchen nur ganz geringe Mengen vorlagen.

Die Versuche wurden eingeleitet durch die Bestimmung der Blutgruppenzugehörigkeit an roten Blutkörperchen. Diese Bestimmung sollte als Anhalt dafür dienen, ob die an den weißen Blutkörperchen festzustellende Blutgruppenzugehörigkeit zu Recht besteht.

Die Agglutinationsversuche an weißen Blutkörperchen wurden mit den beiden Seren Anti-A (Testserum B) und Anti-B (Testserum A) durchgeführt. Die Titerhöhe der Seren betrug 1 : 32 bis 1 : 64.

Es wurden insgesamt 44 Fälle, darunter 17 Fälle der Gruppe 0, 15 Fälle der Gruppe A, 7 Fälle der Gruppe B und 5 Fälle der Gruppe AB auf ihre Agglutinations- und Bindungsfähigkeit hin untersucht.

Um die weißen Blutkörperchen auf ihre Agglutinationsfähigkeit zu untersuchen, wurde einmal, wie bei der Blutgruppenbestimmung der Erythrozyten, eine Aufschwemmung von weißen Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt und diese mit den Testseren gemischt. Das andere Mal wurden die Testseren mit unverdünntem Leukozytensediment vermischt und auf Agglutinationsfähigkeit geprüft.

Die bei diesen Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse waren völlig negativ bei den Versuchen, wo unverdünnte Leukozyten den Testseren zugesetzt wurden. Es traten hierbei regelmäßig, nach gründlicher Durchmischung im Kapillarröhrchen, in den beiden Seren wolkige Trübungen auf, die sich nicht voneinander unterschieden. Die Trübungen waren bei allen untersuchten Gruppen die gleichen.

Bei den Versuchen, wo eine Aufschwemmung von weißen Blutkörperchen mit den Testseren zusammengebracht wurde, waren die Ergebnisse verschiedenartiger.

Von den 15 Untersuchungen der Gruppe A trat nur in 2 Fällen eine einwandfreie Agglutination der Leukozyten in dem Anti-A-Serum ein. Entsprechend der Agglutination der Erythrozyten bildeten sich in einer Zeit von 15 bis 20 Minuten in dem Anti-A-Serum weiße, scharf

abgegrenzte Agglutinate. In dem Anti-B-Serum (A-Serum) bewirkten die Leukezyten nur eine gleichmäßige, leichte Trübung.

Bei den übrigen 13 Fällen der Gruppe A kam es regelmäßig in Anti-A- wie im Anti-B-Serum zu einer wolkig-flockigen Ballung der weißen Blutkörperchen. Auch bei längerem Warten (3 Stunden und länger) trat keine Veränderung des genannten Zustandes ein.

Von den 7 Untersuchungen der Gruppe B trat in einem Falle nach 15 Minuten eine deutliche Agglutination der weißen Blutkörperchen im Anti-B-Serum ein. Das Anti-A-Serum zeigte wieder eine gleichmäßige, leichte Trübung.

In den anderen 6 Fällen traten im Anti-A- wie im Anti-B-Serum die bei der A-Gruppe schon genannten wolkig-flockigen Trübungen auf.

Die 5 Untersuchungen der Gruppe AB ergaben in 2 Fällen im Anti-A- und Anti-B-Serum nach 15 Minuten eine deutliche Agglutination der weißen Blutkörperchen. In den anderen 3 Fällen traten wieder die oben genannten Erscheinungen auf.

Eine Untersuchung der Gruppe O könnte an sich wegfallen, da ja die Erythrozyten durch die beiden Seren (Anti-A und Anti-B) nicht agglutiniert werden. Jedoch auf Grund der bisherigen unklaren Ergebnisse wurde auch das Verhalten der weißen Blutkörperchen dieser Gruppe den Testseren gegenüber beobachtet. Von den 17 Fällen trat bei 5 Untersuchungen eine leichte, gleichmäßige Trübung der Testseren ein. Bei den übrigen 12 Fällen wurden wieder die wolkig-flockigen Ballungen beobachtet.

Es geht also aus diesen Versuchen hervor, daß für die weißen Blutkörperchen die Agglutinationsprobe zum Nachweis der Gruppenzugehörigkeit ausscheidet.

B. Das Absorptionsverfahren.

Das es also durch die Agglutinationsprobe nicht möglich ist, die gruppenspezifischen Eigenschaften der weißen Blutkörperchen nachzuweisen, galt es im folgenden, diese auf ihre Absorptions- d. h. ihre Bindungsfähigkeit gegenüber den Antiseren zu prüfen.

Die Absorptions- oder Absättigungsmethode beruht auf der Tatsache, daß z. B. Erythrozyten mit der Eigenschaft A, die einem Serum mit der Eigenschaft Anti-A in ausreichender Menge zugesetzt werden, durch die eintretende Agglutination die Eigenschaft Anti-A verbrauchen. Das in dem Anti-Serum vorhandene Agglutinin wird also durch die Erythrozyten gebunden. Zum Nachweis, daß das Agglutinin gebunden ist, bringt man zu dem abzentrifugierten Anti-A-Serum, Testblutkörperchen der Gruppe A. Tritt hierbei keine Agglutination ein, so wurde das Agglutinin des Anti-A-Serums von den Erythrozyten absorbiert.

Die Versuche wurden zunächst so durchgeführt, daß eine bestimmte Menge weißer Blutkörperchen einer dem Volumen nach gleichen Serummenge zugesetzt wird. In den meisten Fällen wurde zu einer, im Kapillarröhrchen 3 cm langen Serumsäule die gleiche Länge eines dicht zentrifugierten Sedimentes (20 Minuten) gegeben.

Der Gang der Untersuchungen war nun folgender:

Nachdem zwei Kapillarröhrchen, das eine mit Anti-A, das andere mit Anti-B-Serum in der genannten Menge gefüllt waren, wurden die weißen Blutkörperchen durch Aneinanderhalten der Kapillarenöffnungen den Seren zugesetzt. Um eine möglichst innige Durchmischung der beiden Substanzen zu erreichen, wurden die weißen Blutkörperchen nicht auf einmal, sondern in kleinen Mengen zu den Seren gegeben . Wenn also ein kleiner Teil des Sedimentes (etwa ein halber Zentimeter) in das Serum übergetreten ist, wird dieses durch langsames Hin- und Herfließenlassen in der Kapillare mit den weißen Blutkörperchen gemischt. Dieses Mischen wird verschiedene Male wiederholt, bis die zuzusetzende Menge erschöpft ist.

Läßt man nun das Gemisch einige Zeit liegen, so setzen sich die weißen Blutkörperchen am Boden des Kapillarröhrchens ab. Hierdurch kommt jedoch von diesen nur ein kleiner Teil mit den Seren in Berührung. Für die Absorption ist es aber wichtig, daß die Berührungsfläche der beiden Substanzen möglichst groß ist. In einer Zeit von zwei bis drei Stunden müssen darum die weißen Blutkörperchen mehrmals (etwa alle halbe Stunde) mit den Seren gut durchmischt werden. Die Durchmischung wurde einmal, wie schon erwähnt, im Kapillarröhrchen durch häufiges Hin- und Herfließenlassen vorgenommen; das andere Mal wurde der Inhalt der Kapillarröhrchen vorsichtig auf einen Objektträger ausgeblasen und mit einem Glasstäbchen kräftig durchmischt. In diesem Falle muß das Mischen schnell durchgeführt werden, da hierbei das Material leicht verdunstet. Nach dem Umrühren wird die Mischung wieder in die Kapillarröhrchen aufgezogen. Nach Ablauf von 2 bis 3 Stunden werden dann die Röhrchen an ihrem freien, unbenetzten Ende zugeschmolzen, mit Etiketten versehen und zentrifugiert (15 Minuten).

An der Trennungsstelle von weißen Blutkörperchen und Serum werden nun die Kapillarröhrchen durchgefeilt und die Seren auf ihren Agglutiningehalt geprüft, indem zu dem Anti-A-Serum Testerythrozyten der Gruppe A, und zu dem Anti-B-Serum Testerythrozyten der Gruppe B gegeben werden.

Bei den Untersuchungen der Gruppe A trat in letzterem Falle regelmäßig eine deutliche Agglutination der Erythrozyten ein; die Serumeigenschaften blieben also in diesem Falle unverändert. Bei der Prüfung des Anti-A-Serums blieb dagegen die Agglutination aus. Es folgt also hieraus, daß die Serumeigenschaften des Anti-A-Serums von den weißen Blutkörperchen der Gruppe A verbraucht wurden.

Bei den Untersuchungen der weißen Blutkörperchen der Gruppe B stellte sich heraus, daß diese ein etwas schwächeres Bindungsvermögen als die weißen Blutkörperchen der Gruppe A besitzen. Die dem Volumen nach gleichen Mengen der weißen Blutkörperchen und des Serums reichten hier nicht aus, um alles Agglutinin aus dem Serum zu entfernen. Es trat hier nach der Absorption im Anti-B-Serum eine schwache Agglutination der Erythrozyten der Gruppe B ein. Es wurde deshalb das Volumen der weißen Blutkörperchen gegenüber dem des Serums erhöht, und zwar wurde jetzt eine 4 cm lange Säule weißer

Blutkörperchen mit einer 3 cm langen Serumsäule vermischt. Mit diesem Mischungsverhältnis gelang es nach einer Absorptionsdauer von 2 bis 3 Stunden, alles Agglutinin aus dem Anti-B-Serum zu absorbieren.

Bei den Untersuchungen der weißen Blutkörperchen der Gruppe AB zeigte sich, daß diese, verglichen mit den genannten Gruppen, die Agglutinine am schwächsten binden. Bei einem gleichen Mischungsverhältnis von Seren und weißen Blutkörperchen war die nach der Absorption in den Seren auftretende Agglutination ziemlich deutlich ausgeprägt. Die Menge der weißen Blutkörperchen wurde nun wieder erhöht, und zwar gelang eine vollständige Bindung der Agglutinine an die weißen Blutkörperchen erst dann, wenn deren Volumen doppelt so groß war wie das der Seren.

Die Untersuchungen der weißen Blutkörperchen der Gruppe 0 ergaben, daß diese weder Anti-A- noch Anti-B-Serum binden. —

Da, wie schon gesagt, das Untersuchungsmaterial nur in geringen Mengen zur Verfügung stand, konnten durch die oben angegebenen Mengenverhältnisse nur annähernde Werte gegeben werden.

III. BEURTEILUNG DER ERGEBNISSE.

Gegenüber Wichels und Lampe und auch Thomsen, die für ihre Untersuchungen auf Sonderfälle, d. h. auf Blut von Kranken mit lymphatischer oder myeloischer Leukämie angewiesen waren, war bei unserem Vorgehen, d. h. durch die Blutentnahme aus dem rechten Herzen und die besondere Art, die weißen Blutkörperchen in Kapillarröhrchen zu isolieren, fast in jedem Falle, der hier im Institut vorgenommenen Sektionen, die Möglichkeit für Untersuchungen an weißen Blutkörperchen gegeben.

Unser Verfahren hat somit den Vorzug der Unabhängigkeit von Sonderfällen und bietet in seiner Art eine neue Möglichkeit der Materialgewinnung für weitere, nähere Untersuchungen an weißen Blutkörperchen.

Im folgenden soll zu der Frage der Agglutinierbarkeit der weißen Blutkörperchen in menschlichen Seren Stellung genommen werden.

Thomsen, der im Gegensatz zu Wichels und Lampe die Agglutinationsprobe zum sicheren Nachweis der Gruppenzugehörigkeit der weißen Blutkörperchen ablehnt, begründet das Fehlen der Agglutination durch die im Vergleich zu den Erythrozyten schwächer agglutininbindenden Eigenschaften der weißen Blutkörperchen. Er nimmt an, daß die agglutininbindende Kraft (die Rezeptorstärke) der weißen Blutkörperchen zu schwach ist, um eine Agglutination entstehen zu lassen.

Eine andere Begründung, die Agglutinationsprobe abzulehnen, kann auch in der klebrigen Beschaffenheit der weißen Blutkörperchen gesehen werden, so daß allein auf Grund dieser Eigenschaft die Agglutinationsprobe nicht gelingen kann.

Wichels und Lampe, die die Behauptung aufstellen, daß durch die Agglutinationsprobe der Nachweis der Blutgruppenzugehörigkeit erbracht werden könnte, haben offenbar die durch Klebrigkeit bedingten Zusammenballungen für echte angesehen, denn sie haben nur A-Fälle untersucht und keine O-Fälle. Hätten sie O-Fälle untersucht, dann hätten sie gemerkt, daß eine Zusammenballung durch Klebrigkeit nicht von einer solchen durch Agglutination zu unterscheiden ist.

Die Beurteilung der Bindungsfähigkeit der weißen Blutkörperchen im Vergleich zu der Bindungsfähigkeit der Erythrozyten ergab wesentliche Unterschiede.

Die agglutininbindende Kraft der weißen Blutkörperchen erwies sich, verglichen mit dem Absorptionsvermögen der Erythrozyten, als bedeutend schwächer.

Während die weißen Blutkörperchen je nach Gruppenzugehörigkeit in einer dem Volumen nach gleichen bis doppelten Menge als Sediment den Seren zugesetzt werden mußten, um alles Agglutinin zu binden, genügt bei den Erythrozyten etwa schon $^1/_4$ Volumen an Sediment im Vergleich zum Volumen der Serummenge, um alles Agglutinin zu absorbieren.

Ein weiterer Unterschied gegenüber den roten Blutkörperchen besteht in der Zeit, die für die Absorption erforderlich ist. Entsprechend der größeren Menge wird für die weißen Blutkörperchen eine längere Bindungszeit benötigt.

Während für die Erythrozyten eine Absättigungszeit von 10 bis 20 Minuten ausreicht, um alles Agglutinin aus dem Serum zu binden, ist hierzu für die weißen Blutkörperchen eine Zeit von 2 bis 3 Stunden erforderlich.

Das Absorptionsvermögen der weißen Blutkörperchen ist also um vieles schwächer als das der Erythrozyten.

IV. ZUSAMMENFASSUNG.

I. Zum Nachweis der Gruppenzugehörigkeit der weißen Blutkörperchen (am Leichenblut) ist die Agglutinationsprobe, der unsicheren Ergebnisse wegen, nicht geeignet.

II. Durch das Absorptionsverfahren läßt sich die Gruppenzugehörigkeit der weißen Blutkörperchen ohne Schwierigkeiten bestimmen.

III. Das Absorptionsvermögen der weißen Blutkörperchen ist um ein vielfaches (bis zu 10fach) schwächer als das der roten Blutkörperchen.

Am Schlusse meiner Ausführungen möchte ich Herrn Dr. med. habil. Ponsold für die freundliche Überlassung des Themas und Hinweise meinen herzlichsten Dank aussprechen.

V. SCHRIFTTUM.

Junghans, Erich: Die Klebrigkeit der lebenden Leukozyten von Neugeborenen. Zeitschr. f. Geburtshilfe u. Gyn., 114. Bd., 1. Heft. 1936.

Kritschewski, J. L. und Schwarzmann, L. A.: Die gruppenspezifische Differenzierung der menschlichen Organe. Klin. Wochenschr. 1927.

Ponsold, A.: Die Feststellung der zu Lebzeiten eingetretenen Eindickung und Verdünnung des Blutes an der Leiche. Dt. Zeitschr. f .d. ges. ger. Med., 26. Bd., 1.—3. Heft.

Thomsen, O.: Recherches sur la différentation des groupes sérologiques dans l'organisme. C. r. Soc. Biol. Paris, Bd. 104, 1930.

Thomsen, O.: Über das Vorkommen der Rezeptoren A und B außerhalb der Erythrozyten. Aus Steffan: Handbuch der Blutgruppenkunde. 1932.

Wichels u. Lampe: Die gruppenspezifische Differenzierung der Leukozyten. Klin. Wochenschr. 1928.

LEBENSLAUF.

Am 15. Juni 1909 wurde ich in Halle (Saale) als Sohn des damaligen Eisenbahn-Obersekretärs Reinhold Kloß und seiner Ehefrau Else geb. Wolff geboren.

Meine Schulausbildung erhielt ich an der hiesigen Charlottenschule und dem hiesigen Reform-Real-Gymnasium, wo ich im Februar 1932 die Reifeprüfung bestand.

Ebenfalls in Halle studierte ich Zahnheilkunde. Im Juli 1934 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung, und im Mai 1937 legte ich die Zahnärztliche Prüfung ab. Von da an war ich als Doktorand am hiesigen Institut für gerichtliche Medizin tätig.

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Straße 14
Spezialdruckerei für wissenschaftliche Werke und Dissertationen